

淡黄花百合珠芽诱导愈伤组织 再分化出丛生芽的研究

张翔宇, 陈杰, 吉云, 严显进, 王彩云, 阮培均

(毕节市中药研究所, 贵州 毕节 551700)

摘要:以淡黄花百合珠芽为试材,采用植物组织培养方法,研究不同浓度的 TDZ、NAA、2,4-D、ZT 对淡黄花百合珠芽愈伤组织诱导及再分化出丛生芽的影响。结果表明:MS+0.3 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA+1.0 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L ZT 为最佳培养基,最快可在 15 d 诱导出愈伤组织,愈伤组织诱导率为 $(98.67\pm 2.31)\%$,最快可在 32 d 分化出丛生芽,丛生芽诱导率为 $(98.67\pm 2.31)\%$,平均出芽数为 (17.67 ± 0.58) 个。

关键词:淡黄花百合;珠芽;愈伤组织;再分化;丛生芽

中图分类号:S 644.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)19-0101-05

淡黄花百合(*Lilium sulphureum* Baker)属百合科百合属多年生草本植物^[1]。其鳞茎可预防和治疗肺结核、慢性气管炎、咳嗽、肺气肿、肺嗽咯血、体虚肿弱、疮痈肿瘤等症,若服食清蒸百合,还可治胃病、肝病、贫血等,是多种滋补药的主药^[2]。

百合的传统繁殖主要有珠芽繁殖、子球繁殖、鳞片繁殖 3 种方式^[3]。采用组织培养方式进行百合快速繁殖,因其繁殖系数高而成为目前百合重要的繁殖方式之一。要使百合组织培养与生产衔接,关键是要针对不同品种制订与之相匹配的组培快繁方案^[4]。杨雪清等^[5]

以淡黄花百合的鳞片为外植体,采用“一步法”进行丛生小鳞茎及其植株再生发现,MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L 为小鳞茎最佳诱导培养基,诱导率最高达到 95.0%。李黛等^[6]在 MS 固体培养基上研究不同浓度蔗糖、6-BA 及 NAA 对淡黄花百合芽增殖和愈伤组织生长的影响时发现,芽增殖的最佳培养基为 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+4%蔗糖。愈伤组织增殖的最适培养基为 MS+0.5 mg/L 6-BA+1 mg/L NAA+3%蔗糖。邱宁宏等^[7]以淡黄花百合的鳞片为外植体进行试管培养,研究发现丛生芽诱导最佳培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+3%蔗糖,继代增殖的最佳培养基为 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+3%蔗糖。以上研究均采用了 6-BA 和 NAA 2 种植物生长调节剂组合,但二者使用浓度比例存在较大差异。有研究报道,TDZ 作为细胞分裂素的活性是 6-BA 的 50 倍、异戊烯腺嘌呤(Zip)的 1 000 倍^[8]。因此,该试验以

第一作者简介:张翔宇(1986-),男,硕士,助理研究员,现主要从事药用植物资源工程等研究工作。E-mail:304626335@qq.com。

基金项目:国家科技支撑计划子课题资助项目(2015BAI05B00);毕节市成果转化资助项目[毕科成字(2014)8]号;贵州省中药现代化科技产业研究开发专项资助项目(黔科合 SY 字(2014)3078-5 号)。

收稿日期:2015-05-20

induction in different media formulations of varieties of *O. fragrans* groups and the influences of plant growth regulators, sucrose concentration, dark processing time etc. to leaves callus induction of different varieties of *O. fragrans* groups. The results showed that the best way to sterilize pedicels was using 5% NaClO for 3 min, the best way to sterilize leaves was using 0.1% HgCl for 5 min. The best mediums for pedicels of different varieties of *O. fragrans* were as follow, *O. fragrans* 'Boye Jingui' was MS+2.00 mg/L 6-BA+0.40 mg/L 2,4-D, *O. fragrans* 'Zigeng Zi Yingui' was B5+2.00 mg/L 6-BA+0.40 mg/L 2,4-D, *O. fragrans* 'Yucheng Dangui' was B5+1.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L 2,4-D, *O. fragrans* 'Rixiang' was B5+2.00 mg/L 6-BA+0.10 mg/L 2,4-D. The results of leaves callus induction showed that, the best sucrose concentration was 25 g/L; it was best to put the mediums in dark condition for 22 days. The best medium for leaves of *O. fragrans* 'Yucheng Dangui' was MS+3.00 mg/L 6-BA+1.00 mg/L 2,4-D. The best medium for *O. fragrans* 'Tianxiang Taige' was MS+2.00 mg/L 6-BA+0.50 mg/L 2,4-D.

Keywords: tissue culture; callus; *Osmanthus fragrans*; mediums

MS 为基本培养基,探索添加不同浓度噻重氮苯基脲(TDZ)、 α -萘乙酸(NAA)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、玉米素(ZT)组合对淡黄花百合珠芽愈伤组织诱导及再分化出丛生芽的作用,进而探索出淡黄花百合珠芽诱导丛生芽的最佳培养基,以期对淡黄花百合工厂化大规模培养育苗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 外植体 淡黄花百合珠芽采自贵州省毕节市大方县羊场镇淡黄花百合种植基地内 2 年生淡黄花百合植株。

1.1.2 培养基 MS 为基本培养基,每个培养基添加 25 g/L 的蔗糖,pH 5.8~6.0,琼脂 6.5 g/L。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体灭菌 将采集的淡黄花百合珠芽带回实验室,自来水冲洗 2~3 h,用镊子将外层小鳞片剥下,放入烧杯中,加入 1~2 滴吐温 20,用玻棒搅拌 2~3 min,放置 30 min,将水倒掉,用纱布将外植体包好,用自来水冲洗 1~2 h 后,于超净工作台上用 75% 的酒精浸泡 30 s,用无菌水冲洗 3~4 次,0.1% 的升汞消毒 8 min,无菌水冲洗 6 次以上,最后将外植体放入事先准备好的无菌不锈钢盘中,用滤纸吸干表面水分,即可得到接种用外植体。

1.2.2 外植体接种 用镊子将准备好的无菌外植体接种于不同植物生长调节剂组合的培养基上(表 1),每组接种 5 瓶,每瓶接种 5 个,每组重复 3 次。

1.2.3 培养 接种后放在培养架上培养,培养条件白天(25±3)℃,晚上(20±3)℃,湿度(85±5)%,光照强度为 1 000~1 200 lx,光照时间 12 h/d。

1.2.4 试验设计 采用正交实验筛选愈伤组织诱导及再分化出丛生芽的最佳培养基。采用 IBM SPSS Statistics 20 软件进行正交设计,TDZ、NAA、2,4-D、ZT 4 因素 3 水平的试验设计见表 1。

表 1 4 因素 3 水平正交实验

Table 1 The four factors three levels orthogonal test mg/L

试验号 Test number	因素 Factor			
	TDZ	NAA	2,4-D	ZT
MS1	1.0	0.5	1.5	0.1
MS2	1.0	1.0	0.5	0.5
MS3	0.7	0.1	1.5	0.5
MS4	0.7	1.0	1.0	0.1
MS5	0.7	0.5	0.5	1.0
MS6	0.3	1.0	1.5	1.0
MS7	0.3	0.1	0.5	0.1
MS8	1.0	0.1	1.0	1.0
MS9	0.3	0.5	1.0	0.5

1.3 项目测定

出愈时间:外植体开始萌动并产生愈伤组织分化的

时间,以 T1 表示。

分化出芽时间:愈伤组织开始再分化出芽的时间,以 T2 表示。

愈伤组织诱导率:待愈伤组织开始萌发时,计算诱导率,以 F1 表示,则愈伤组织诱导率计算公式为: $F1(\%) = \text{产生愈伤组织处植体个数} / \text{接入外植体个数} \times 100$ 。

芽诱导率:待愈伤组织开始再分化出芽时,计算芽诱导率,以 F2 表示,则芽诱导率计算公式为: $F2(\%) = \text{分化出芽的愈伤组织个数} / \text{愈伤组织个数} \times 100$ 。

平均出芽数:待培养到 60 d 时,计算平均出芽数,以 F3 表示,则平均出芽数计算公式为: $F3 = \text{愈伤组织产生的总芽数} / \text{可分化出芽的瓶数}$ 。

1.4 数据分析

所得数据均采用 IBM SPSS Statistics 20 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同种类及浓度的植物生长调节剂组合对珠芽诱导出愈时间的影响

从表 3 中出愈时间的Ⅲ型平方和可以看出,TDZ 的Ⅲ型平方和为 34.667,大于 NAA、2,4-D、ZT,这表明在对淡黄花百合珠芽诱导愈伤组织萌发时间的影响中,TDZ 起主要作用,NAA、2,4-D 的作用次之,ZT 作用最小。表 4 不同浓度 TDZ、NAA、2,4-D、ZT 组合对出愈时间的边界均值估算结果表明,不同浓度 TDZ、NAA、2,4-D、ZT 对出愈时间的影响不同,随着 TDZ 浓度的增加,诱导愈伤组织的时间有一定延长,而 NAA、2,4-D、ZT 对愈伤组织诱导的最短时间时的浓度分别为 0.5、1.0、0.5 mg/L。因此,诱导愈伤组织时间最快的培养基组合为 MS+0.3 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA+1.0 mg/L 2,4-D+

表 2 对珠芽诱导出愈时间、愈伤组织诱导率、芽诱导时间、芽诱导率、平均出芽数的结果

Table 2 The results of different plant growth regulator combination to germination time of callus and induction rate of callus and germination time of cluster buds and induction rate of cluster buds and average differentiation budding number of buds of bulbils

试验号 Test number	指标 Index				
	T1/d	F1/%	T2/d	F2/%	F3/个
MS1	20	41.33±2.31 ^{EF}	40.00	48.48±2.63 ^{FI}	6.00±1.00 ^{EF}
MS2	20	30.67±2.31 ^{FG}	40.00	45.83±7.23 ^{FI}	6.00±1.00 ^{EF}
MS3	18	73.33±2.31 ^{CC}	37.00	79.63±3.20 ^{BCbc}	10.67±0.58 ^{Cc}
MS4	18	62.67±2.31 ^{DE}	37.00	72.22±4.81 ^{CDcd}	8.33±0.58 ^{Dde}
MS5	17	85.33±2.31 ^{Bb}	35.00	85.13±1.60 ^{Bb}	13.00±1.00 ^{Bb}
MS6	18	61.33±2.31 ^{DE}	37.00	65.28±2.31 ^{DEde}	9.00±0.00 ^{CDd}
MS7	18	69.33±2.31 ^{CD}	37.00	76.91±0.76 ^{BCc}	9.33±0.58 ^{CDd}
MS8	19	58.67±2.31 ^{DE}	38.00	58.89±8.39 ^{Ee}	7.67±0.58 ^{DEe}
MS9	15	98.67±2.31 ^{Aa}	32.00	98.67±2.31 ^{Aa}	17.67±0.58 ^{Aa}

注:表中数据旁标注字母为 Duncan 统计结果,同列不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

表 3 主体间效应的检验结果

Table 3 The test result of the effect between the main body

因变量 Dependent variable	源 Source	III 型平方和 Type III sum of squares	df	均方 S	F	Sig.	R ²
T1	模型 Model	8 913. 000a	9	990. 333			
	TDZ	34. 667	2	17. 333			
	NAA	8. 667	2	4. 333			1. 000
	2,4-D	8. 667	2	4. 333			
	ZT	4. 667	2	2. 333			
F1	模型 Model	122 944. 000a	9	13 660. 444	2 561. 333	0	
	TDZ	6 006. 519	2	3 003. 259	563. 111	0	
	NAA	2 582. 519	2	1 291. 259	242. 111	0	0. 999
	2,4-D	1 074. 963	2	537. 481	100. 778	0	
	ZT	630. 519	2	315. 259	59. 111	0	
T2	模型 Model	37 430. 333a	9	4 158. 926	16 041. 571	0	
	TDZ	87. 630	2	43. 815	169. 000	0	
	NAA	31. 630	2	15. 815	61. 000	0	1. 000
	2,4-D	36. 963	2	18. 481	71. 286	0	
	ZT	14. 519	2	7. 259	28. 000	0	
F2	模型 Model	139 906. 249a	9	15 545. 139	790. 324	0	
	TDZ	4 905. 326	2	2 452. 663	124. 695	0	
	NAA	1 236. 564	2	618. 282	31. 434	0	0. 997
	2,4-D	671. 187	2	335. 594	17. 062	0	
	ZT	353. 207	2	176. 603	8. 979	0. 002	
F3	模型 Model	2 889. 667a	9	321. 074	619. 214	0	
	TDZ	144. 963	2	72. 481	139. 786	0	
	NAA	92. 519	2	46. 259	89. 214	0	0. 997
	2,4-D	33. 185	2	16. 593	32. 000	0	
	ZT	57. 185	2	28. 593	55. 143	0	

表 4 诱导出愈时间的边界均值估算

Table 4 The mean boundary analysis results on germination time of callus

因素 Factor	浓度 Concentration /(mg · L ⁻¹)	均值 Mean	标准误差 Standard error	95% 置信区间 95% Confidence interval	
TDZ	0. 3	17. 000	0. 000	17. 000	17. 000
	0. 7	17. 667	0. 000	17. 667	17. 667
	1. 0	19. 667	0. 000	19. 667	19. 667
	0. 1	18. 333	0. 000	18. 333	18. 333
NAA	0. 5	17. 333	0. 000	17. 333	17. 333
	1. 0	18. 667	0. 000	18. 667	18. 667
	0. 5	18. 333	0. 000	18. 333	18. 333
	1. 0	17. 333	0. 000	17. 333	17. 333
2,4-D	1. 5	18. 667	0. 000	18. 667	18. 667
	0. 1	18. 667	0. 000	18. 667	18. 667
	0. 5	17. 667	0. 000	17. 667	17. 667
	1. 0	18. 000	0. 000	18. 000	18. 000

0. 5 mg/L ZT。

2. 2 不同种类及浓度的植物生长调节剂组合对愈伤组织诱导率的影响

从表 3 中愈伤组织诱导率的Ⅲ型平方和可以看出, TDZ 的Ⅲ型平方和为 6 006. 519, 大于 NAA、2,4-D、ZT,

这表明在对淡黄花百合珠芽愈伤组织诱导率的影响中, 作用大小为 TDZ>NAA>2,4-D>ZT。表 5 愈伤组织诱导率的边界均值分析结果表明, 不同浓度 TDZ、NAA、2,4-D、ZT 对愈伤组织诱导率的影响不同, 随着 TDZ 使用浓度的增加, 诱导率逐渐降低, 随着 ZT 使用浓度的增加, 诱导率逐渐增加, 而使用 NAA 和 2,4-D 对愈伤组织诱导率的最佳浓度分别为 0. 5 mg/L 和 1. 0 mg/L, 因此对愈伤组织诱导率的最佳培养基组合为 MS+0. 3 mg/L TDZ+0. 5 mg/L NAA+1. 0 mg/L 2,4-D+0. 5 mg/L ZT, 愈伤组织诱导率最高可达(98. 67±2. 31)%。同时, 诱导产生的愈伤组织为黄绿色(图 1A), 质地疏松, 易于分化。

表 5 愈伤组织诱导率的边界均值估算

Table 5 The mean boundary analysis results on induction rate of callus

因素 Factor	浓度 Concentration /(mg · L ⁻¹)	均值 Mean	标准误差 Standard error	95% 置信区间 95% Confidence interval	
TDZ	0. 3	76. 444	0. 770	74. 827	78. 062
	0. 7	73. 778	0. 770	72. 160	75. 395
	0. 5	61. 778	0. 770	60. 160	63. 395
	0. 1	67. 111	0. 770	65. 494	68. 728
NAA	0. 5	75. 111	0. 770	73. 494	76. 728
	1. 0	51. 556	0. 770	49. 938	53. 173
	0. 5	67. 556	0. 770	65. 938	69. 173
	1. 0	68. 444	0. 770	66. 827	70. 062
2,4-D	1. 5	58. 667	0. 770	57. 049	60. 284
	0. 1	57. 778	0. 770	56. 160	59. 395
	0. 5	67. 556	0. 770	65. 938	69. 173
	1. 0	68. 444	0. 770	66. 827	70. 062

2. 3 不同种类及浓度的植物生长调节剂组合对丛生芽诱导时间的影响

从表 3 中丛生芽诱导时间的Ⅲ型平方和可以看出, TDZ 的Ⅲ型平方和为 87. 63, 大于 NAA、2,4-D、ZT, 这表明在对淡黄花百合珠芽愈伤组织分化丛生芽诱导时间的影响中, 作用大小为 TDZ>2,4-D>NAA>ZT。表 6 丛生芽诱导时间的边界均值分析结果表明, 不同浓度 TDZ、NAA、2,4-D、ZT 对愈伤组织诱导率的影响不同, 随着 TDZ 使用浓度的增加, 诱导出丛生芽的时间逐渐延迟, NAA、2,4-D、ZT 的最佳使用浓度分别为 0. 5、1. 0、0. 5 mg/L, 因此对丛生芽诱导发生时间的最佳培养基组合为 MS+0. 3 mg/L TDZ+0. 5 mg/L NAA+1. 0 mg/L 2,4-D+0. 5 mg/L ZT, 最快诱导丛生芽的时间为 32. 00 d。

2. 4 不同种类及浓度的植物生长调节剂组合对丛生芽诱导率的影响

从表 3 中丛生芽诱导率的Ⅲ型平方和可以看出, TDZ 的Ⅲ型平方和为 4 905. 326, 大于 NAA、2,4-D、ZT,

表 6 丛生芽诱导时间的边界均值估算

Table 6 The mean boundary analysis results on germination time of cluster buds

因素 Factor	浓度 Concentration /(mg·L ⁻¹)	均值 Mean	标准误差 Standard error	95% 置信区间	
				95% Confidence interval 下限 Lower limit	上限 Upper limit
TDZ	0.3	35.556	0.170	35.199	35.912
	0.7	36.222	0.170	35.866	36.579
	1.0	39.667	0.170	39.310	40.023
NAA	0.1	37.556	0.170	37.199	37.912
	0.5	35.667	0.170	35.310	36.023
	1.0	38.222	0.170	37.866	38.579
2,4-D	0.5	37.556	0.170	37.199	37.912
	1.0	35.556	0.170	35.199	35.912
	1.5	38.333	0.170	37.977	38.690
ZT	0.1	38.111	0.170	37.755	38.468
	0.5	36.333	0.170	35.977	36.690
	1.0	37.000	0.170	36.643	37.357

在对淡黄花百合珠芽愈伤组织再分化出丛生芽诱导率的影响中 TDZ>NAA>2,4-D>ZT。表 7 愈伤组织再分化出丛生芽诱导率的边界均值分析结果表明,不同浓度 TDZ、NAA、2,4-D、ZT 对愈伤组织诱导率的影响不同,随着 TDZ 使用浓度的增加,对丛生芽的诱导率逐渐降低,NAA、2,4-D、ZT 对丛生芽诱导的最佳浓度分别为 0.5、1.0、0.5 mg/L,因此对丛生芽诱导的最佳组合为 MS+0.3 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA+1.0 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L ZT,愈伤组织诱导率最高可达 (98.67±2.31)%。

表 7 丛生芽诱导率的边界均值估算

Table 7 The mean boundary analysis results on induction rate of cluster buds

因素 Factor	浓度 Concentration /(mg·L ⁻¹)	均值 Mean	标准误差 Standard error	95% 置信区间	
				95% Confidence interval 下限 Lower limit	上限 Upper limit
TDZ	0.3	80.284	1.478	77.179	83.390
	0.7	78.996	1.478	75.890	82.101
	1.0	51.069	1.478	47.963	54.175
NAA	0.1	71.809	1.478	68.703	74.915
	0.5	77.428	1.478	74.322	80.534
	1.0	61.112	1.478	58.006	64.218
2,4-D	0.5	69.291	1.478	66.185	72.397
	1.0	76.593	1.478	73.487	79.699
	1.5	64.464	1.478	61.359	67.570
ZT	0.1	65.871	1.478	62.765	68.977
	0.5	74.710	1.478	71.604	77.816
	1.0	69.768	1.478	66.662	72.874

2.5 不同种类及浓度的植物生长调节剂组合对分化出芽数的影响

从表 3 中丛生芽平均出芽数的Ⅲ型平方和可以看出,TDZ 的Ⅲ型平方和为 144.963,大于 NAA、2,4-D、ZT,在对丛生芽平均出芽数的影响中 TDZ>NAA>ZT>

2,4-D。表 8 愈伤组织再分化出丛生芽的平均出芽数的边界均值分析结果表明,不同浓度 TDZ、NAA、2,4-D、ZT 对愈伤组织诱导率的影响不同,随着 TDZ 使用浓度的增加,分化出芽数逐渐减少,NAA、2,4-D、ZT 对诱导分化平均出芽数最多时的浓度分别为 0.5、1.0、0.5 mg/L,因此,诱导平均分化出芽数最多时的最佳培养基组合为 MS+0.3 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA+1.0 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L ZT,出芽数最高可达 17.67±0.58。同时,MS9 配方培养的芽体生长良好,为嫩绿色,生长速度很快(图 1B)。

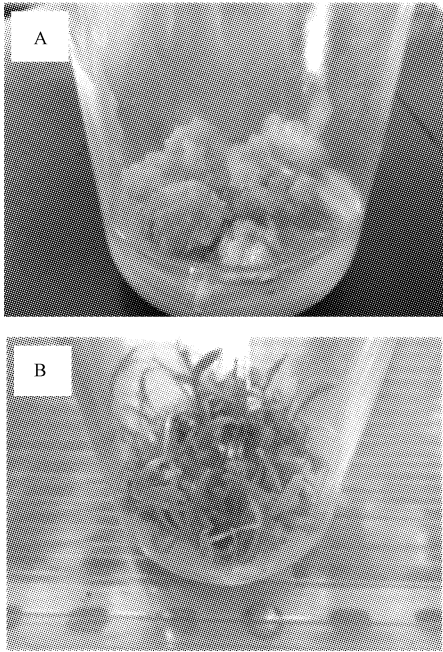


图 1 MS9号配方组合诱导的愈伤组织(A)及愈伤组织分化出的丛生芽(B)

Fig. 1 MS9 of the callus (A) and the differentiation of cluster buds (B)

表 8 平均分化出芽数的边界均值估算

Table 8 The mean boundary analysis results on average differentiation budding numberof buds

因素 Factor	浓度 Concentration /(mg·L ⁻¹)	均值 Mean	标准误差 Standard error	95% 置信区间	
				95% Confidence interval 下限 Lower limit	上限 Upper limit
TDZ	0.3	12.000	0.240	11.496	12.504
	0.7	10.667	0.240	10.162	11.171
	1.0	6.556	0.240	6.051	7.060
NAA	0.1	9.222	0.240	8.718	9.727
	0.5	12.222	0.240	11.718	12.727
	1.0	7.778	0.240	7.273	8.282
2,4-D	0.5	9.444	0.240	8.940	9.949
	1.0	11.222	0.240	10.718	11.727
	1.5	8.556	0.240	8.051	9.060
ZT	0.1	7.889	0.240	7.385	8.393
	0.5	11.444	0.240	10.940	11.949
	1.0	9.889	0.240	9.385	10.393

3 讨论

植物体细胞胚胎发生是植物体细胞表达全能性、进行植株再生的重要途径之一,也是植物发育早期阶段研究的一个有效的研究模式^[9]。TDZ 是一种人工合成的苯基脲类化合物,研究表明其既可以在愈伤组织诱导阶段起作用,也可以在体胚诱导、发育或萌发阶段起作用^[9]。许多报道认为,在植物体胚发生过程中,TDZ 通过调节内源植物激素或相关的酶活性,或者通过胁迫诱导起作用,它还能调整细胞膜结构、能量水平、营养吸收和同化作用^[10-14]。

赵银萍等^[15]研究发现单独添加 TDZ 0.5 mg/L 或 2,4-D 0.2 mg/L 与 TDZ 2.0 mg/L 混合使用,都能诱导黄色王百合或玻利亚娜百合的叶片基部产生不定芽,但芽诱导率不高,他们认为其原因可能与叶片材料选取的部位以及叶基部细胞的生理特性有关。而该试验以淡黄花百合珠芽作为外植体,采用 TDZ、NAA、2,4-D、ZT 4 种植物生长调节剂以不同浓度组合进行研究,表明,针对出愈时间、愈伤组织诱导率、出芽时间、芽诱导率以及平均出芽数等 5 个指标,TDZ 的Ⅲ型平方和均最大,说明在这 4 种植物生长调节剂中,TDZ 均起到了主要作用,这验证了其既可以在愈伤组织诱导阶段起作用,也可以在体胚诱导、发育或萌发阶段起作用,且该试验最佳组合对愈伤组织及丛生芽的诱导率均达到 $(98.67 \pm 2.31)\%$,通过与赵银萍等^[15]研究结论进行对比分析后认为导致其芽诱导率不高的原因并非仅仅是与叶片材料选取的部位以及叶基部细胞的生理特性有关,而更重要的原因是与植物生长调节剂配合使用及浓度组合有关。同时,研究发现,使用较低浓度的 TDZ 对愈伤组织诱导时间、愈伤组织诱导率、丛生芽诱导时间、丛生芽诱导率、出芽数均有同样较为显著的作用,而随着 TDZ 使用浓度的增加,对愈伤组织诱导时间及丛生芽诱导时间均有延迟作用,同时会降低愈伤组织诱导率、丛生芽诱

导率及出芽数,这表明,TDZ 的添加量与指标体系之间存在负相关性。

参考文献

- [1] 刘德军,黄跃进.百合[M].北京:中国中医药出版社,2001.
- [2] 杨晶,商万有.百合的药用价值研究[J].吉林农业,2011(7):271.
- [3] 周春华,尤超,陈凝华.百合组织培养研究进展[J].北方园艺,2013(14):193-195.
- [4] 袁丽丽,刘青林.从第二届国际百合属研讨会看世界百合研究趋势[J].中国花卉园艺,2010(22):13-15.
- [5] 杨雪清,王淑芳,杨蕊,等.淡黄花百合丛生小鳞茎的诱导及快速繁殖[J].河南农业科学,2007(3):98-100.
- [6] 李黛,谈锋,祝顺琴.淡黄花百合的组织培养[J].种子,2005,24(9):27-29.
- [7] 邱宁宏,罗林会,王勤,等.淡黄花百合的组织培养与快速繁殖[J].中国野生植物资源,2004,23(2):64-65.
- [8] 徐晓峰,黄学林.TDZ:一种有效的植物生长调节剂[J].植物学通报,2003(20):227-237.
- [9] 陈云凤,张春荣,黄霞,等.TDZ 对植物体细胞胚胎发生的作用[J].植物生理学通讯,2006,42(1):127-133.
- [10] VICTOR J M R,MURTHY B N S,MURCH S J,et al.Role of endogenous purine metabolism in thidiazuron-induced somatic embryogenesis of peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J].Plant Growth Regul,1996,28:41-47.
- [11] HUTCHINSON M J,SAXENA P K.Acetylsalicylic acid enhances and synchronizes thidiazuron-induced somatic embryogenesis in geranium (*Pelargonium×hortorum* Bailey) tissue cultures[J].Plant Cell Rep,1996,15:512-515.
- [12] HUTCHINSON M J,SAXENA P K.Role of purine metabolism in thidiazuron-induced somatic embryogenesis of geranium(*Pelargonium×hortorum*) hypocotyl cultures[J].Physiol Plant,1996,98:517-522.
- [13] HUTCHINSON M J,KRISHARAJ S,Saxena P K.Inhibitory effect of GA₃ on the development of TDZ-induced somatic embryogenesis of geranium (*Pelargonium×hortorum*) hypocotyles cultures[J].Plant Cell Rep,1997,16:435-438.
- [14] HUTCHINSON M J,MURR D P,KRISHARAJ S.Does ethylene play a role in TDZ-regulated somatic embryogenesis of geranium (*Pelargonium×hortorum*) hypocotyles cultures[J].In vitro Cell Deve Biol-Plant,1997,33:136-141.
- [15] 赵银萍,张九东,程建国.用百合叶片及其鳞茎叶片离体诱导不定芽[J].西安文理学院学报,2005,8(1):21-23.

Study on Bulbil Induction Callus Differentiation From Cluster Buds of *Lilium sulphureum*

ZHANG Xiangyu, CHEN Jie, JI Yun, YAN Xianjin, WANG Caiyun, RUAN Peijun
(Bijie Institute of Traditional Chinese Medicine, Bijie, Guizhou 551700)

Abstract: The *Lilium sulphureum* callus were used as material by adopting the method of plant tissue culture, the effect of different concentrations of TDZ, NAA, 2,4-D, ZT on bulbil induction callus differentiation from cluster buds of *Lilium sulphureum* was studied. The results showed that MS + 0.3 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA + 1.0 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L ZT was the optimum medium, callus appeared in the fifteenth days, induction rate was $(98.67 \pm 2.31)\%$ of callus, cluster buds differentiated in the thirty-second days, induction rate was $(98.67 \pm 2.31)\%$ of cluster buds, average budding was $(17.67 \pm 0.58)\%$.

Keywords: *Lilium sulphureum*; bulbil; callus; differentiation; cluster buds